

Biomarcadores de exposición a plaguicidas*

Occupational pesticide exposure and their association with effect biomarkers*

**Resumen de Trabajo Presentado en las XIII Jornadas de Investigación de la Clínica Universitaria Reina Fabiola- Diciembre de 2016*

Lerda, D¹; Fernandez, R²; Filippi, I³; Diaz, P⁴; Butinof, M⁵; Franchini, G⁵; Lantieri, M⁶; Blanco, M⁷.

Introducción:

La exposición a plaguicidas, durante todas las etapas de su uso, puede tener efectos adversos en la salud y el medio ambiente. Estos efectos no siempre están relacionados con lesiones inmediatas y aparentes, sino que pueden tardar incluso años en manifestarse. La utilización de biomarcadores en estudios epidemiológicos, como son las evaluaciones de daño genético, permiten la detección temprana de un riesgo incrementado de desarrollar diversas patologías, definiendo estados de prepatogénesis, como neoplasias, problemas reproductivos, malformaciones y enfermedades cardiovasculares. Los estudios de biomonitorio en poblaciones agrícolas publicados desde la década de los

años 70 indican resultados muy diversos, dada la amplia variedad de biomarcadores citogenéticos analizados y la heterogeneidad de las poblaciones incluidas en dichos estudios. En etapas previas de esta investigación se han descrito factores personales y contextuales vinculados con la exposición a plaguicidas entre trabajadores agrícolas, diseñado escalas de exposición a plaguicidas y descrito condiciones de salud percibida por agroaplicadores terrestres de la Provincia de Córdoba. Este trabajo presenta biomarcadores de daño citogenético, aportando nuevos elementos para la detección de grupos de riesgo, la comprensión de la red causal de las patologías asociadas a tales exposiciones y proponer herramientas preventivas.

Objetivos:

Evaluar biomarcadores de genotoxicidad en dos poblaciones diferentes expuestas ocupacionalmente a plaguicidas: horticultores del cinturón verde de la ciudad de Córdoba (HCV) y aplicadores terrestres de plaguicidas (ATP) en cultivos extensivos de la Provincia de Córdoba, con respecto a sujetos no expuestos ocupacionalmente.

Materiales y métodos:

Población Para la selección de los sujetos, criterios de inclusión/exclusión fueron rigurosamente considerados. Todos firmaron un consentimiento informado y el trabajo fue aprobado por el comité de Ética de la CURF. Se incluyó a trabajadores del cinturón verde (n=20), aplicadores terrestres de cultivos extensivos (n=47) y controles no expuestos (n=50). Biomarcadores En sangre periférica se determinó el intercambio de cromátides hermanas (ICH), las aberraciones cromosómicas (AC), los micronucleos (MN) y el ensayo del cometa (SCGE). Se realizó un análisis descriptivo para determinar la posición y las medidas de dispersión de todos los indicadores de genotoxicidad evaluados. Un análisis de la diferencia de medias se realizó para determinar las diferencias significativas entre los grupos. Se ajustaron modelos lineales generales

para evaluar el daño genotóxico y la exposición. Fueron utilizados los resultados de los indicadores de genotoxicidad de los controles y expuestos, y como covariables la edad, el consumo de alcohol y el nivel de la butirilcolinesterasa. Los análisis estadísticos se realizaron con software STATA 14.0 (Statacorp LP. Collegestation, TX, EE.UU.).

Resultados:

La Tabla 1 muestra que los valores de los biomarcadores en los grupos expuestos fueron superiores a los no expuestos. Además, las medias de todos los biomarcadores genotóxicos en ATP fueron más altos que HCV a excepción de SCGE ($p < 0,05$). La Tabla 2 muestra los valores de daño significativo para ICH y MN en HCV y ATP, teniendo en cuenta a los no expuestos como línea de base. No hubo un daño significativo observado para SCGE en ambos grupos expuestos. Ambos grupos comparten un aumento significativo en los parámetros de genotoxicidad como se desprende de los valores más altos de AC, MN e ICH respecto a los sujetos no expuestos.

Tabla 1. Indicadores de genotoxicidad en sujetos expuestos y sujetos no expuestos ocupacionalmente

Vari able	No expuestos ocupacion almente** (Media/DS)	HCV expu estos (Medi a/DS)	ATP expu estos (Media /DS)
ICH	6,487/0.100	8,190 /0.37 6*	9,644/ 0.276*
AC	0,156/0.034	0,780 /0.13 1*	1,112/ 0.127*
MN	3,848/0.095	5,796 /0.12 6*	6,550/ 0.176*
SCG E	123,507/0.4 99	147,8 21/1. 672*	146,67 9/4.51 8*
*significativo para $p < 0.05$			
** grupo control como línea de base			

Tabla 2: Modelo de resultados para biomarcadores de genotoxicidad y covariables asociadas en HCV, ATP y controles.

Variable	Coef	Stand. error	p- valor
ICH			
Edad	0.0099	0.0130	0.445
BcHe	0.0002	0.0001	0.079
Control*	1.0000	-----	-----
HCV	1.8861	0.4282	0.0000
ATP	3.0312	0.3082	0.0000
MN			
Edad	0.0031	0.0083	0.7030
BcHe	0.0001	0.0001	0.1150
Control*	1.0000	-----	-----
HCV	2.0945	0.2722	0.0000
ATP	2.7754	0.1959	0.0000
BcHe: butirilcolinesterasa *grupo control como línea de base			

Conclusiones: Estos resultados ponen de relieve el papel de la exposición crónica a plaguicidas en daños a la salud. Las anomalías genéticas se detectaron en los tres grupos con diferentes niveles de impacto y

diferencias significativas entre grupos. Diferentes factores involucrados con la exposición a plaguicidas pueden identificarse en ambos grupos de cultivos extensivos e intensivos. La importancia de este estudio radica en el hecho de que permite reconocer las particularidades de microambientes locales que afectan diferencialmente a la salud con fines de vigilancia y prevención.

ABSTRACT

INTRODUCTION

Exposure to pesticides, during all stages of use, may have adverse effects on health and the environment. These effects are not always related to immediate and apparent injuries, but may even take years to manifest. The use of biomarkers in epidemiological studies, such as evaluations of genetic damage, allow the early detection of an increased risk of developing various pathologies, defining states of prepathogenesis, such as neoplasms, problems Reproductive, malformations and cardiovascular diseases. Biomonitoring Studies in agricultural populations published since the decade of the years 70 indicate very different results, given the wide variety of cytogenetic biomarkers analyzed and the heterogeneity of the populations included in these studies. In previous

stages of this research have described personal and contextual factors linked to pesticide exposure among agricultural workers, designed scales of exposure to pesticides and described health conditions perceived by agrochemicals applicators of the province of Cordoba. This paper presents biomarkers of cytogenetic damage, providing new elements for the detection of risk groups, understanding the causal network of pathologies associated with such exhibits and proposing preventive tools.

Objectives: To evaluate biomarkers of genotoxicity in two different populations exposed occupational to pesticides: horticulturists of the green belt of the city of Cordoba (HCV) and terrestrial applicators of pesticides (ATP) in extensive crops of the Province of Córdoba, with respect to subjects not exposed occupationally.

Materials and methods:

Population for the selection of subjects, inclusion/exclusion criteria were rigorously considered. All signed informed consent and the work was approved by the Ethics committee of the CURF. Green Belt workers (n = 20), land applicators of extensive crops (n = 47) and non-exposed controls (n = 50) were included. *Biomarkers* in peripheral blood the sister chromatids exchange (SCE), the chromosomal aberrations

(CA), the micronuclei (MN) and the comet assay (CE) were determined. A descriptive analysis was carried out to determine the position and the scattering measures of all the indicators of genotoxicity evaluated.

Statistical analyses

An analysis of the mean difference was made to determine the significant differences between the groups.

General linear models were adjusted to evaluate genotoxic damage and exposure. The results of the indicators of genotoxicity of the controls and exposed were used, and as covariates the age, the consumption of alcohol and the level of the butyrylcholinesterase. Statistical analyses were carried out with software Stata 14.0 (Statacorp LP.) Collegestation, TX, USA).

Results: Table 1 shows that the values of biomarkers in the exposed groups were higher than those not exposed. In addition, the stockings of all genotoxic biomarkers in ATP were higher than HCV except for CE (P < 0.05). Table 2 shows the significant damage values for SCE and MN in HCV and ATP, taking into account the non-exposed as baseline. There was no significant damage observed for CE in both exposed groups. Both groups share a significant increase in genotoxicity parameters as it is apparent from the

highest values of AC, MN and SCE with respect to non-exposed subjects..

Table 1. Average and standard deviation for indicators of genotoxicity in exposed subjects and subjects not exposed occupationally.

Variable	Not exposed occupationally** (Media/S D)	HCV exposed (Media/S D)	ATP exposed (Media/S D)
SCE	6,487/0.100	8,190/0.376*	9,644/0.276*
AC	0,156/0.034	0,780/0.131*	1,112/0.127*
MN	3,848/0.095	5,796/0.126*	6,550/0.176*
CE	123,507/0.499	147,821/1.672*	146,679/4.518*
*significant for p< 0.05			
** control group as baseline			

Conclusions:

These results highlight the role of chronic exposure to pesticides in health damage. The genetic anomalies were detected in the three groups with different levels of impact and significant differences between groups. Different factors involved in pesticide exposure can be identified in both extensive and intensive crop groups. The importance of this study lies in the fact that it allows to recognize the peculiarities of local microenvironments that affect health differentially for surveillance and prevention purposes.

Table 2: Results model for biomarkers of genotoxicity and associated covariates in HCV, ATP and controls.

Variable	Coef	Stand. error	p-valor
SCE			
Age	0.0099	0.0130	0.445
BcHe	0.0002	0.0001	0.079
Control*	1.0000	-----	-----
HCV	1.8861	0.4282	0.0000
ATP	3.0312	0.3082	0.0000
MN			
Age	0.0031	0.0083	0.7030
BcHe	0.0001	0.0001	0.1150
Control*	1.0000	-----	-----
HCV	2.0945	0.2722	0.0000
ATP	2.7754	0.1959	0.0000
BcHe: butyrylcholinesterase * control group as baseline			

Palabras claves: PLAGUICIDAS, EXPOSICION OCUPACIONAL, BIOMARCADORES
Keywords: PESTICIDE, OCCUPATIONAL EXPOSURE, BIOMARKERS

1. Servicio de Biología Molecular, Clínica Universitaria Reina Fabiola, Universidad Católica de Córdoba, Argentina.
 2. Servicio de Pediatría Área de toxicología, Clínica Universitaria Reina Fabiola, Universidad Católica de Córdoba, Argentina
 3. Facultad de Ciencias Químicas UNC
 4. Escuela de Nutrición, Facultad de Ciencias Médicas - UNC / INICSA CONICET - Facultad de Ciencias Médicas UNC
 5. Escuela de Nutrición, Facultad de Ciencias Médicas – UNC
 6. Facultad de Ciencias Médicas, UNC
 7. Facultad de Ciencias Agropecuarias, UNC
- Correspondencia: Clínica Universitaria Reina Fabiola. Oncativo 1248 -X5004FHP- Córdoba, Argentina. Daniel Lerda e-mail: dlerda@coyspu.com.ar

